

③

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2001-525921

(P2001-525921A)

(43) 公表日 平成13年12月11日 (2001. 12. 11)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード (参考)
G 0 1 N 27/327		G 0 1 N 27/00	Z
27/00		33/543	5 3 1
33/543	5 3 1	27/30	3 5 3 Z

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 32 頁)

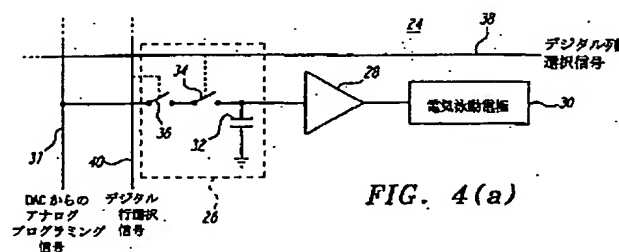
(21) 出願番号 特願平10-505227
(86) (22) 出願日 平成9年6月24日 (1997. 6. 24)
(85) 翻訳文提出日 平成11年1月8日 (1999. 1. 8)
(86) 国際出願番号 PCT/US 97/10997
(87) 国際公開番号 WO 98/01758
(87) 国際公開日 平成10年1月15日 (1998. 1. 15)
(31) 優先権主張番号 08/677, 305
(32) 優先日 平成8年7月9日 (1996. 7. 9)
(33) 優先権主張国 米国 (US)
(81) 指定国 EP (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), AU, BR, CA, CN, JP, KR, NZ

(71) 出願人 ナノゲン・インコーポレイテッド
アメリカ合衆国92121カリフォルニア州サンディエゴ、パシフィック・センター・コート10398番
(72) 発明者 コバックス, グレゴリー・ティ・エイ
アメリカ合衆国94305カリフォルニア州スタンフォード、ピーター・クーツ・サークル105番
(74) 代理人 弁理士 青山 稔 (外1名)

(54) 【発明の名称】 多重化能動生物学的アレイ

(57) 【要約】

改良生物学的電極アレイ (12) およびその使用法。アレイ (12) 中の各電極を各サンプルホールド回路 (26) に連結する。電極30およびサンプルホールド回路 (26) は不可欠であって、単一の半導体チップ内にアレイ (12) を形成して、各サンプルホールド回路 (26) に、単一の時分割デジタルアナログコンバーター (DAC) (22) によって供給される所定の電圧を負荷することができるようにする (37)。全てのサンプルホールド回路 (26) に、いくつかのまたは全ての電極位置 (30) 中を走査することができるマルチプレクサーによりアクセスすることができる。各サンプルホールド回路 (26) は、キャパシター (32) および1以上のトランジスタスイッチ (34、36) を含むことができ、該スイッチ (34、36) は、閉じた時、マトリックス (12) に形成したキャパシター (32) およびソースライン (37) の間に電気通信を供する。



【特許請求の範囲】

1. 複数のアドレス可能な生物学的電極サイトを含み、ここに、各電極サイトは、電極、該電極に連結された出力を有する出力増幅回路、該出力増幅回路の入りに連結されたキャパシターおよび該キャパシターに連結された少なくとも1つのスイッチを含む生物学的電極マトリックス。
2. 各生物学的電極サイトが、さらに、該電極の電圧を検知するために該電極に連結された入力に有する電圧増幅器を含む請求項1記載の生物学的電極マトリックス。
3. 各生物学的電極サイトが、さらに、該電極に流れる電流を検知するために該電極に連結された入力に有する電流検知回路を含む請求項1記載の生物学的電極マトリックス。
4. 該複数の生物学的電極サイトが複数の列および行に整列され；
生物学的電極サイトの各列が別個の列選択ラインに結合され；
生物学的電極サイトの各行が別個の行選択ラインに結合され；および
各生物学的電極サイトが各々の列および行選択ライン上の選択信号のコインシデンスに応答するスイッチング回路を含み、該スイッチング回路が該各々の列および行選択ラインの両方上の選択信号を受信する際に該キャパシターおよびアナログプログラミング信号の間の電気通信を供する請求項1記載の生物学的電極マトリックス。
5. 各生物学的電極サイトが、さらに、該電極の下に形成された光学的ディテクターを含み、各電極が少なくとも部分的に透明である請求項4記載の生物学的電極マトリックス。
6. 電極；
サンプルホールド回路；および
該電極および該サンプルホールド回路に連結された出力増幅器；
を含む該電極サイト生物学的電極アレイに使用するための電極サイト。
7. 該サンプルホールド回路がスイッチング回路に連結されたキャパシターを含み、該スイッチング回路が各々の列および行選択ライン上の選択信号のコイ

ンシデンスに応答性であって、該各々の列および行選択ライン上の選択信号を受信する際に該キャパシターおよびアナログプログラミング信号の間に電気通信を供する請求項6記載の電極サイト。

8. 該サンプルホールド回路がスイッチング回路に連結されたキャパシターを含み、該スイッチ回路が二入力論理ゲートの出力によって制御されるものであって、閉じている時、該キャパシターおよび該生物学的電極アレイの電圧ソースラインの間に電気通信を供する請求項6記載の電極サイト。

9. 該サンプルホールド回路が一对のCMOSトランスマッションゲートに連結されたキャパシターを含み、該CMOSトランスマッションゲートが直列に構成されるものであって、閉じている時、該キャパシターおよび該生物学的電極アレイ内に形成された電圧ソースラインの間に電気通信を供する請求項6記載の電極サイト。

10. 電極および増幅回路を介して該電極に連結されたアナログ信号蓄積エレメントを含む生物学的電極アレイに使用するための電極サイト。

11. 該アナログ信号蓄積エレメントがスイッチング回路に連結されたキャパシターを含む請求項10記載の電極サイト。

12. 該スイッチング回路が二入力論理ゲートの出力によって制御されるものであって、該論理ゲートからの選択された出力信号を受信する際に該キャパシターおよび該生物学的電極アレイの電圧ソースラインの間に電気通信を供する請求項11の電極サイト。

13. 該アナログ信号蓄積手段が一对のCMOSトランスマッションゲートに連結されたキャパシターを含み、該CMOSトランスマッションゲートが直列で構成されるものであって、閉じた時、該キャパシターおよび該生物学的電極アレイ内に形成された電圧ソースラインの間に電気通信を供する請求項10記載の電極サイト。

14. メモリー；

該メモリーに連結されたデジタルアナログコンバーター；

カウンタ；

該カウンターにおよび該メモリーに連結された列デコーダー；

該カウンターにおよび該メモリーに連結された行デコーダー；および

該デジタルアナログコンバーター、該列デコーダーおよび該行デコーダーに連結された能動生物学的電極のマトリックスであって、該能動生物学的電極は複数の列および行に整列された複数の生物学的電極サイトを有し、各生物学的サイトは電極および増幅回路を介して該電極に連結されたサンプルホールド回路を有し、該サンプルホールド回路は選択された列選択ライン、選択された行選択ラインおよび該マトリックスのソースラインに連結された該能動生物学的電極のマトリックス；

を含む生物学的電極アレイ。

15. 該メモリー、該デジタルアナログコンバーター、該カウンター、該列デコーダー、該行デコーダーおよび該マトリックスが単一の半導体チップ上に形成された請求項14記載の生物学的電極アレイ。

16. さらに、該生物学的電極サイトの各電極に連結された検知増幅器を含む請求項14記載の生物学的電極アレイ。

17. 光学的ディテクターが該生物学的電極サイトの少なくとも1つの電極の下に配置され、該生物学的サイトの少なくとも1つに位置する電極が少なくとも部分的に透明である請求項14記載の生物学的電極アレイ。

18. 該少なくとも1つの電極がインジウム・スズ酸化物を含む請求項17記載の生物学的電極アレイ。

19. 該少なくとも1つの電極がそれを通して光を通過させるためのスリットを入れた電極構造を含む請求項17記載の生物学的電極アレイ。

20. 該少なくとも1つの電極がそこを通して光を通過させるための穴を開けた電極構造を含む請求項17記載の生物学的電極アレイ。

21. さらに、少なくとも1つの加熱エレメントを含む請求項14記載の生物学的電極アレイ。

22. さらに、選択的に制御することができる複数の加熱エレメントを含む請

求項14記載の生物学的電極アレイ。

23. 電極；

電氣的刺激を該電極に与えるために該電極に連結された駆動エレメント；および

該電極に与えるべき該電氣的刺激の大きさを示す信号を受信し蓄積するために該駆動エレメントに連結された局部メモリー；

を含む生物学的電極アレイに使用するためのサイト。

24. 該駆動エレメントが増幅器を含み、該局部メモリーがキャパシターを含む請求項23記載のサイト。

25. 該キャパシターが一对のスイッチを介して該生物学的電極アレイに連結され、ひとつのスイッチは該生物学的アレイの列選択ラインに連結され、もうひとつのスイッチは該生物学的アレイの行選択ラインに連結された請求項24記載のサイト。

26. 該生物学的電極アレイ内に形成された少なくとも1つのサンプルホールド回路上に蓄積されるべき電圧を表す値をメモリーから検索し、該サンプルホールド回路は出力増幅器を介して該電極に連結され；

該値をデジタルアナログコンバーターに供給し、該デジタルアナログコンバーターは該値に比例する電圧を発生し、かつ該電圧を該少なくとも1つのサンプルホールド回路と電気通信している導体に供給し；次いで

該電圧を該少なくとも1つのサンプルホールド回路上に蓄積する；
工程を含む生物学的電極アレイ内の電極の電氣的特性を制御する方法。

27. 検索、供給、蓄積の該工程を周期的に繰り返して、該サンプルホールド回路上に蓄積された電圧が予め選択された電圧の範囲内に留まるように保証する請求項27記載の該方法。

28. 生物学的電極アレイ内の電極サイトをアドレスし；

該アドレスされた電極サイトに位置するサンプルホールド回路に、
該電極サイトに位置する電極に与えるべき電氣的刺激を示す電気信号を供給し；

次いで

該電極サイトに位置するサンプルホールド回路が、駆動エレメントを介して該電氣的刺激が該電極に与えられることを可能にする；

工程を含む生物学的電極アレイ内の電極の電氣的特性を制御する方法。

29. 該生物学的電極アレイが複数の列選択ラインおよび行選択ラインを含み、該電極サイトが選択された列選択ラインおよび選択された行選択ラインに連結され、該アドレッシング工程が電氣信号を該選択された列選択ラインおよび行選択ラインに供給することによって行われる請求項28記載の該方法。

30. 生物学的電極アレイ内の電極サイトをアドレスし；

該アドレスされた電極サイトに位置する局部メモリー回路に、該電極サイトに位置する電極サイトに与えるべき電氣的刺激を示す電氣的信号を供給し；次いで

該局部メモリー回路が該電極サイトに位置する駆動エレメントと電氣通信して該電極に与えるべき電氣的刺激を制御できるようにする；

工程を含む生物学的電極アレイ内の電極の電氣的特性を制御する方法。

31.

単一の集積回路チップ上に形成された複数のアドレス可能な生物学的電極サイトを含み；

ここに、各電極サイトは電極、該電極に連結された出力増幅回路、該出力増幅回路に連結されたアナログ蓄積エレメント、および該アナログ蓄積エレメントに連結されたスイッチング回路を含み；

ここに、各電極サイトの電極はその表面上に、該電極および該溶液の間の対イオン輸送を供するための透過層を形成しており；および

ここに、各電極サイトの透過層はその上に、該溶液内からの1以上の選択された結合物質との結合を可能にするためのバイオ付着層を形成している；電解質および1以上の荷電した特異的結合物質を含む溶液を受けるように適合させ、かつ溶液中における該特異的結合物質の該デバイス表面上の選択された位置までの電氣泳動的輸送に影響するように適合させたエレクトロニクスデバイス。

32. 該複数の生物学的電極サイトが複数の列および行に整列され；

生物学的電極サイトの各列が別個の列選択ラインに連結され；

生物学的電極サイトの各行が別個の行選択ラインに連結され；および

各生物学的電極サイトのスイッチング回路が各列および行選択ライン上の選択信号のコインシデンスに応答性であり、該各列および行選択ラインの両方の上の選択信号を受信に際し、そこに連結されたアナログ蓄積エレメントおよびアナログプログラミング信号の間に電気通信を供する請求項31記載のエレクトロニクスデバイス。

【発明の詳細な説明】

多重化能動生物学的アレイ発明の分野

本発明は、全般的に、生物学的反応を遂行しおよび／または監視するエレクトロニクスシステム、より詳しくは、微視的フォーマットにおける多段的かつ多重的反応を遂行し、制御するための自己アドレス可能でかつ自己集合するマイクロエレクトロニクスシステムの設計、作成および使用に関する。

発明の背景

現在までかなりの間、本質的な注意が、生物学的反応を遂行し、および／または監視するためのアレイベースのエレクトロニクスシステムの設計、実行および使用に向けられてきた。

例えば、種々のタイプのエレクトロニクスバイオセンサーを用いてある種の生物学的反応の進行を監視（または、測定）することができること、およびこれらのセンサーのアレイを、積層回路の分野において使用される技術に類似した技術を用いて作成することができることが認められている。

図1に示すごとく、典型的な先行技術のバイオセンサー1は、結合した固定化アフィニティーリガンド3を有するバイオ特異的固定化表面2、該固定化リガンド3および特異的分析物との間に起こるであろう化学反応の発生を検知することが可能なトランスデューサー4および、トランスデューサー4によって発生された信号をフィルターし、増幅し、選択された生物学的反応の進行または発生を監視するのに有用な種々の測定へ変換するための増幅および制御ユニット5を含むことができる。上記のタイプのバイオセンサーは、Protein Immobilization, Fundamentals & Applications, R. F. Taylor編集（1991）（第8章）；およびImmobilized Affinity Ligand Techniques, Hermansonら（1992）（第5章）に、幾分詳しく議論される。

バイオセンサーのアレイの作成は、例えば、[Optical and Electronics Methods and Apparatus for Molecule Detection]と題された米国特許出願第07/87

2,582号(国際公開第WO93/22678号として、1993年11月14日に公開された。以下、「Hollisらのアプリケーション」という)に開示される。「Hollisらのアプリケーション」は、主要には、複数の導線を用いて電氣的にアドレスすることができる試験サイトのアレイを含むバイオセンサーデバイスに向けられる。種々のタイプのバイオセンサーが、該試験サイトにおける使用に関して説明され、該試験サイトをフォトリソグラフィックプロセッシング技術を用いて半導体ウェハーに形成することができることが示唆された。さらに、例えば、ダイナミックランダムアクセスメモリー(DRAM)またはアクティブマトリックス液晶ディスプレイ(AMLCD)デバイスに適用された行列アドレッシング技術を用いてトランジスター・スイッチを経由して該試験サイトを組合わせ検出電気回路に連結できることが示唆された。

上記のバイオセンサーデバイスに加えて、溶液中またはその他の場所の中で選択された位置(または試験サイト)に電氣的刺激(または信号)を搬送することが可能ないくつかのデバイスが開発されている。図2に示すごとく、これらのデバイスは、しばしば、電流、電圧または電力源のごときソース6、該電流ソース6に連結された電極7、該電極7の表面に形成された透過層8および透過層8上に形成されたバイオ付着層9を含む。該透過層8は、該電極7および溶液(図示せず)間の小さな対イオンの自由移動を提供し、付着層9は特異的結合物の連結を提供する。

上記のタイプの例示的なシステムは、それは1995年5月に公開され、[Self-Addressable Self-Assembling Microelectronic Systems and Devices for Molecular Biological Analysis and Diagnostics]と題されたPCT出願第PCT/US94/12270号、および1996年1月に公開され、[Self-Addressable Self-Assembling Microelectronic Systems and Devices for Molecular Biological Application]と題されたPCT出願第PCT/US95/08570号に開示され、共に出典明示して本明細書に含まれる(以下、「Hellerらのアプリケーション」と言う)。Hellerらのアプリケーションは、マイクロリソグラフィーまたはマイ

クロマシーニング技術を用いて作成することができ、好ましくは、その表面にア

ドレス可能なマイクロケーションのマトリックスを含むエレクトロニクスデバイスを説明する。さらに、個々のマイクロケーションは、特異的結合物（例えば、核酸、抗体等）のそれ自身への輸送および結合を電気的に制御し、管理するように構成される。かくして、該開示されたデバイスは、微視的フォーマットにおける制御された多段的かつ多重的反応を能動的に実行する能力を有する。適用可能な反応は、例えば、核酸ハイブリダイゼーション、抗体／抗原反応、臨床学的診断、およびマルチステップ・コンビネーション・バイオポリマー合成反応を含む。

種々の溶液および／または生体物質とインターフェースするためのさらなるエレクトロニクスシステムは、1990年4月7日に公開され、[Electrophoretic System] と題された欧州特許出願第89-3133379.3号；1995年1月3日に発行され、[Electrode Assembly Including Iridium Based Mercury Ultramicroelectrode Array] と題された米国特許第5,378,343号；1995年5月24日に発行され、[Microelectronic Interface] と題された米国特許第5,314,495号；および1993年1月12日に発行され、[Microelectronic Interface] と題された米国特許第5,178,161号に開示される。

しかしながら、当業者であれば、（上に引用した特許および特許出願を含む）生物学的反応を実行および／または監視する在来のエレクトロニクスシステムは、しばしば、嵩ばり、高価であり、時に、制御が困難であることを理解するであろう。さらに、当業者であれば、在来の生物学的システムは試験サイトのアレイに負荷する電流／電圧信号を発生し、制御するために「オフ-チップ」電気回路をしばしば用いるので、特別な装置の使用なしに特定の試験サイトに発生した電流／電圧信号を正確に制御することはしばしば困難であることを理解するであろう。試験サイトのアレイに負荷する電流／電圧信号を発生し、制御するために「オン-チップ」電気回路を適用したそれらの在来のシステムに関しては、特定の場、別々の明確な刺激を巨大アレイ内で選択された電極サイトに与えることが所望さ

れる場面において、本質的な困難に直面している。これに対するひとつの理由は、単一サイト刺激特異性が在来のバイオセンサーアレイ内に所望される場合、しばしば該アレイ内の各電極サイトに独立した信号ラインを供給することにより、その必要を満足することである。その結果、在来の生物学的システムは、しばしば所望されるよりも取り扱い難く、高価である。

在来の生物学的システムの上述した限界の観点から、「オフ-チップ」電気回路の使用を最小限にし、ある特定の電極サイトに与えられる電圧／電流を非常に正確に制御しつつ電極サイトの巨大アレイの使用を可能にする改良生物学的システムは、有用であり所望されるであろうことが提案される。

発明の概要

本発明は生物学的反応を実行しおよび／または監視するための改良エレクトロニクスシステムおよびデバイスの設計、実行および使用に向けられる。

ひとつの刷新的な状況において、本発明による生物学的電極アレイは電極サイトのマトリックスを含むことができ、ここに、各電極サイトはそれぞれのサンプルホールド回路に増幅回路（または駆動エレメント）を介して連結された電極を含む。好ましい形態において、該電極、増幅器およびサンプルホールド回路は不可欠であり、単一の半導体チップ内にアレイを形成し、各サンプルホールド回路に単一の時分割デジタルアナログコンバータ（DAC）によって供給された所定の電圧を負荷できるようにする。さらに全てのサンプルホールド回路は、いくつかのまたは全ての電極位置の至るところを走査することができるマルチプレキサーによりアクセスすることができる。この具体例において、各サンプルホールド回路はキャパシターおよびトランジスタスイッチ回路を含むことができ、該トランジスタスイッチ回路は、可能であれば、該キャパシターおよび該マトリックス内に形成されたソースラインの間に電気通信（electrical communication）を供する。しかしながら、別の具体例においては、該サンプルホールド回路は、結合した電極に負荷すべき電気刺激の特性を示す信号（または値）でアドレスし、負荷することができるいくつかの他のタイプのメモリーを含むことができる。そのような別のメモリーは、（例えば、不揮発性アナログ信号蓄積チップ

(Information Storage Devices, Inc., San Jose, California製)におけるごとく) アナログメモリーとして使用される電氣的消去可能プログラムド読み出し専用メモリー (EEPROM) セル、または制御情報の蓄積および比例アナログ出力値の発生が可能な他のタイプの回路を含むことができる。

もうひとつの刷新的な状況において、本発明による生物学的電極アレイは、その上部にメモリー (例えば、ランダムアクセスメモリー (RAM)) を形成している単一半導體チップ、該メモリーに連結されたデジタルアナログコンバーター (DAC)、カウンタ、該カウンタおよび該メモリーに連結された列デコーダー、該カウンタおよび該メモリーに連結された行デコーダー、および該列デコーダーおよび該行デコーダーに連結された能動生物学的電極サイトのマトリックスを含むことができる。使用に際して、アレイ内の種々の電極サイトに供給すべき電圧を表すバイナリー値を該メモリーに、例えば、外部のコンピューターを用いて蓄積する。次いで、該アレイ内の各アドレス (または、選択した数のアドレス) に対して、該バイナリー値を該メモリーから読み出し、今度は、該バイナリー値を選択アドレスにおける「保持」キャパシティー上に蓄積すべき電圧に変換するDACに供する。一旦該アレイのアドレス (または、選択した数のアドレス) の全てを、この方法で走査してしまえば、初めに該メモリーに蓄積されていたのと同じ値か、または、種々の電極サイトに供給された電圧／電流の時間変動が所望されるか否かに依存する新たな値を用いて該工程を繰り返すことができる。(不可避の漏れ電流による) 該サンプルホールド回路上の蓄積電圧の時間の遅延が該電極において許容できない電圧／電流誤差を引き起こさないように、十分に頻繁に走査工程を繰り返すべきであることを、当業者であれば理解するであろう。不揮発性サンプルホールド回路を用いるのであれば(すなわち、EEPROMまたは多少なりとも同等の技術を使用するのであれば)、そのようなディケイは顕著ではなく、任意のスロー更新レートを可能にする。

別の具体例において、該メモリー、カウンタおよびDACを1以上の別々のチップ上に配置することができる。

上述の観点から、本発明による生物学的アレイは「オフ-チップ」回路の使用

およびシステム全体のコストを最小限にしつつ、アレイ内の個々の電極に与える電位／電流の非常に正確な制御を提供することが理解されるであろう。さらに、局部サンプルホールド回路（または、他の局部メモリー回路）を用いて特定の試験サイトに負荷した電気刺激のレベルを制御することによって、本発明のアレイは、刺激特異性のレベルおよび電極使用をほとんどの先行技術システムに比較して非常に優れたものにすることができる。

もうひとつの刷新的な状況において、本発明は、オンボード、制御可能加熱エレメントを含有する断熱皮膜上への全能動アレイ表面の加工を提供する。該加熱エレメントの温度をサイクルすることによって、in situでのDNA増幅を、例えば、ポリメラーゼ連鎖反応によって行うことが可能である。

最後に、さらに別の刷新的な状況において、本発明は、生物学的電極アレイマトリックス内に光学的な蛍光または吸光検知回路の組込みを提供して検知エレクトロニクスへの発光フォトンとの結合を向上させた。より詳しくは、本発明のある具体例によると、例えば、CMOS回路内にMOSフォトダイオード構造のごとき、適当な光学的ディテクターの上に、生物学的能動電極を形成する。そのような具体例において、該電極は少なくとも部分的に透明な物質から形成することができ、あるいは、該電極は下層のフォトディテクターまでその母体を光が通り抜けるような方法で形成することができる。

上述の観点から、本発明の目的は、微視的フォーマットにおいて多段的かつ多重的反応を実行し、制御する改良生物学的電極アレイを提供することにある。

本発明のもうひとつの目的は、電極の数が多くても、コンパクトであって、オフ-チップ制御回路の使用を最小限にする改良生物学的電極アレイを提供することにある。

本発明の別の目的は、サンプルホールド回路を含み、在来のCMOS半導体加工技術を用いて加工することができる改良生物学的電極サイトを提供することにある。

本発明のさらに別の目的は、in situ DNA増幅のごとき反応の進行を促進する加熱エレメントを含む改良生物学的電極アレイを提供することにある。

本発明のさらに別の目的は、選択された電極サイトの下に形成された複数の光学ディテクターを含む改良生物学的電極アレイを提供することにある。

図面の簡単な説明

図1は、先行技術の受動的生物学的システムの説明図である。

図2は、先行技術の能動生物学的システムの説明図である。

図3は、本発明のひとつの形態による生物学的アレイの説明図である。

図4(a)は、本発明のひとつの形態による生物学的電極サイトの説明図である。

図4(b)は、図4(a)に図示した生物学的電極サイトのスイッチ回路のひとつおよび増幅回路をより詳細に示した回路図である。

図4(c)は、図4(b)に図示した電極サイトの部分がいかによりCMOS電気回路を用いて加工されているかを説明する。

図5は、当該電極サイトに位置する電極の電気的特性を監視するための電気回路を含む生物学的電極サイトの説明図である。

図6(a)は、断熱皮膜および生物学的電極アレイを合わせたものの加工を示し、ここに、該生物学的電極アレイはシリコン基板の裏面にエッチングされている。

図6(b)は、図6(a)に示した断熱皮膜および生物学的電極アレイを合わせたものへの低熱伝導チャンバーの付着を図示する。

図7は、本発明による光学ディテクターを含む生物学的電極サイトを図示する。

図8(a)は、本発明のひとつの形態による穴開けされ、部分的に透明な電極の上面図である。

図8(b)は、本発明による部分的に透明な別の電極の具体例の上面図である。

発明の詳細な説明

さて、図面を参照すると、図3に示すごとく、本発明のひとつの好ましい形態による生物学的アレイ10は能動生物学的電極サイト12のマトリックス、列デコーダー14、行デコーダー16、カウンタ18、参照用テーブルの働きをす

るランダムアクセスメモリー（RAM）20、およびデジタルアナログコンバーター（DAC）22を含むことができる。好ましい形態において、上記エレメントの各々を単一半導体チップ上に配置することができ、全アレイ10を在来のCMOS半導体加工技術を用いて加工することができる。さらに、現在の好ましい形態において、コンピューター（図示せず）を用いてデータを、必要な時に、RAM20に例えば、データ入力ポート21を介してロードすることができる。

また、図4（a）を参照すると、各生物学的電極サイト24は、これは生物学的電極12のマトリックスを構成するもので、サンプルホールド回路26、増幅器28および電極30を含むことができる。好ましい形態において、サンプルホールド回路26はキャパシター32および2つのトランジスタスイッチ34および36を含むことができる。スイッチ34および36は直列で連結され、閉じた場合、（DAC22に連結された）電圧ソースライン37およびキャパシター32の間の電気通信を供する。スイッチ34および36は、各々、マトリックス12内に形成された指定の列選択ライン38および行選択ライン40に連結される。

図4（b）および4（c）に示すごとく、各列選択ライン38および各行選択ライン40は、例えば、正コントロールライン（+コントロールライン）41および負コントロールライン（-コントロールライン）43を含むことができ、各スイッチ34または36はCMOSトランスミッションゲート、すなわち、負コントロールライン43に連結されたゲート領域47を有するPMOS FET45および正コントロールライン41に連結されたゲート領域51を有するNMO S FET49を含むことができる。加えて、該増幅回路（または駆動エレメント）28はPMOS電流ソース53を含むことができる。

別の具体例において、上に記載したもののごとき単一のスイッチは、相補的な出力（例えば、+コントロールラインおよび-コントロールライン）と共に二入力論理ゲート（例えば、ANDまたはNANDゲート）によって制御することができ、キャパシター32を選択的に電圧ソースライン37に連結するために使用することができる。そのような具体例において、該論理ゲートは、各々、列選択

ライン38および行選択ライン40上の信号のコインシデンス(coincidence)に
応答するであろう。さらに、いくつかの場合、二トランジスタートランスミッシ

ョンゲートは必要とされず、単一のMOSトランジスターをスイッチとして使用
できることが特筆されるであろう。そのような場合、該論理ゲートに必要なのは
、単に、単一の出力を該スイッチに供給することだけである。

カウンター、列デコーダー、行レコーダー、デジタルアナログコンバーターお
よびランダムアクセスメモリーの設計、加工および機能は当該分野で良く知られ
ており、かくして、それらの構成要素の構造および操作は本明細書では詳しく議
論しない。むしろ、生物学的電極アレイ10の機能の一般的な説明を以下に提供
する。

使用に際し、マトリックス12内の種々の電極サイト24に負荷するべき電圧
を表すバイナリー値をRAM20（または、他の適当な記憶デバイス）に、例え
ば、外部コンピューターを用いて蓄積する。次いで、マトリックス12内の各ア
ドレス（または、選択した数のアドレス）につき、バイナリー値をRAM20か
ら読み出し、今度は、該バイナリー値を、該選択されたサイトアドレスに位置す
るキャパシター32に蓄積すべき電圧に変換するDAC22に供する。出力増幅
器28をキャパシター32および電極30の間に連結し、増幅した刺激信号を電
極30に供する。出力増幅器28は電圧増幅器および／またはバッファーを含む
ことができ、かくして、キャパシター32上の電圧を増幅することができ、増幅
した電圧を電極30に供することができる。別法として、出力増幅器28は電流
増幅器（例えば、相互コンダクタンス増幅器）を含むことができ、電流信号を電
極30に供することもできる。一旦該マトリックスのアドレス（または、選択し
た数のアドレス）の全てを、この方法で走査してしまえば、種々の電極サイトに
供給される電圧／電流の時間変動が所望されるか否かに応じて、初めにRAM2
0に蓄積されていたのと同じ値か、または新たな値を用いて該工程を繰り返すこ
とができる。（不可避の漏れ電流による）キャパシター32上の蓄積電圧の時間の
遅延が電極30において許容できない電圧／電流誤差を引き起こさないように、
充分に頻繁に走査工程を繰り返すべきであることを、当業者であれば理解するで

あろう。

同等のおよび代りの形態において、設計の選択の問題として、カウンター18

RAM20およびDAC22を電気泳動電極アレイを含むチップの上または外に設置することができ、所望するならば、いくつかの他のタイプの回路（例えば、簡単なカウンターまたはシフトレジスタ）を用いて、各々の電極サイト24に位置するサンプルホールド回路26のシーケンスローディングを制御することができる。

また、図5を参照すると、いくつかのアプリケーションにつき、マトリックス12内の1以上の電極30の状態（または、電気的特性）の監視を提供するのが望ましいであろう。この場合、該電極が既知の電流で駆動されるならば、発生する電圧が検知され、あるいは、電極が既知の電圧で駆動されるならば、流れる電流が検知されるものと考えられる。特定の電極30の状態の監視を可能とするために、電圧検知増幅器42を電極30および2次多重化バスまたは出力ピン（図示せず）に連結することができる。電圧検知増幅器42は、全アレイの電気的接地（図示せず）に対する、または、アレイ上の選択された対照電極（図示せず）に対する電極30にかかる電圧の表示を提供する。該対照電極の電圧は、いくつかの場合、該アレイに使用される接地でもある。該アレイ中の電極サイト24に対する検知増幅器42の出力を共通の検知信号ライン上に多重化することもでき、また該共通検知信号ラインに供される信号は、サンプルホールド回路（図示せず）およびアナログデジタルコンバーター（図示せず）のごとき在来の回路を用いて脱多重化することができることを特筆すべきである。該共通検知信号ラインは、該共通信号ライン（すなわち、電圧ソースライン37）から分離することができ、あるいは、同一ラインであることができ、その場合は、それは時分割され、電極サイト24のキャパシター32に荷電信号を供する時間のうちのいくらかの選択された時間に働き、電極サイト24において発生した検知信号のキャリアとして他の時間に働く。

電極30を電圧増幅器28によって駆動し、電極30に流れる電流を検知すべ

き場合、検知レジスター（図示せず）を電圧増幅器28の出力および電極30の間に連結することができ、差動増幅回路（図示せず）の2つの入力を、該検知レジスターを横切って連結することができる。そのような具体例において、該差動

増幅器の出力において発生した信号は、電極30に流れる電流に比例するであろう。

上にある程度説明したごとく、図4（a）および5に図示した具体例はキャパシター32のローディングを制御するために直列に連結された2つのスイッチ34および36（ひとつのスイッチは、各々、列および行ラインのいずれかによって制御されている）を利用しているが、当業者であれば、スイッチング機能は多数の方法のいずれかで実行することができることを理解するであろう。例えば、それは、図4（a）および5に図示したスイッチ34および36をCMOSトランスマッションゲートまたはANDゲートおよびスイッチの組合せで置換えることと同等であると考えられる。

再び、図4（c）を参照すると、好ましい形態において、生物学的アレイ10はCMOSまたは他の能動回路プロセスを用いて加工することができる。さらに、当業者であれば、上記機能のいくつかまたは全てを具体化する完全に加工したCMOS回路を後処理して上記完成能動生物学的電極アレイ10を形成することができることを理解するであろう。例えば、図6に図示したごとく、生物学的電極30を下層のCMOS回路の上に配置し、次いで、オーバーラップパシベーション層44で保護することができる。さらに、パシベーション層44に開口を加工して、生物学的電極30の活性領域ならびに、例えば、ボンドパッド（図示せず）のごとき、いずれかの要求される周辺部相互連結サイトを露出することができる。そのような具体例において、電極30を金、イリジウムまたは白金のごとき電気化学的に適した材料から加工することができ、在来の薄膜析出技術を用いて析出させ、パターン化することができる。パシベーション層44は、例えば、プラズマ析出窒化ケイ素および／または炭化ケイ素を含むことができ、パシベーション層44の開口をプラズマエッチングのごとき在来のマイクロ加工技術を用いて形成することができる。最後に、生体分子が電極30の表面にまたはその近

傍に結合すべき場合、カップリング剤および／または中間層（図7に図示）を使用することができる。

さて、図6（a）および6（b）を参照すると、もう1つの好ましい形態において、生物学的アレイ10の全作動表面を、1以上のオンボード、制御可能な加熱エレメント（図示せず）を含有する断熱皮膜4b上に形成することができる。該断熱皮膜を当該分野で良く知られたマイクロマシーニング技術を用いて形成できる。例えば、生物学的アレイ回路および電極を含有する完成CMOSウェーハの裏面を適当なエッチマスク（例えば、窒化ケイ素）でコートできる。窒化ケイ素を標準技術を用いてパターン化して、該皮膜が形成されるべき場所に開口を形成することができる。該ウェーハをエッチング溶液（例えば、[Klassen et al., "Micromachined Thermally Isolated Circuits", Proceedings of the Solid-State Sensor and Actuator Workshop, Hilton Head, South Carolina, June 3-6, 1996, pp.127-131]に記載されたとき、溶かしたシリコンを添加した水酸化テトラメチルアンモニウム）に浸すことによって、該皮膜を形成することができる。かくして、該皮膜を温度サイクルにかけてin situでDNA増幅できる。さらに、該皮膜の制御可能な加熱を、抵抗のアレイ、または該皮膜領域の至る所に分布する適当にバイアスしたMOSFETs（金属酸化物半導体電解効果トランジスタ（meta loxide semiconductor field effect transistors））を用いて達成することができる。かくして、アレイ10を覆う溶液48（図7（b）に図示）にDNAを増幅するポリメラーゼ連鎖反応（PCR）を実行するためのDNAおよび適当な薬品を供給すれば、該皮膜の温度をサイクルすることにより所望の増幅が可能となるであろう。熱フィードバックを所望すれば、該皮膜の温度を容易に決定することができる。例えば、該皮膜に組込まれたヒーターレジスタの抵抗値の熱係数または該皮膜に組込まれたダイオードの順方向電圧を使用して該溶液温度の表示を供することができる。最後に、一旦溶液48に含有されたDNAを増幅すれば、適当な薬品をチャンバー50に注入して1以上の所望の解析ステップを達成することができる。そのような薬品の実例は制限酵素、蛍光ラベルおよびインターカラーター等である。

例示的なマイクロマシーン化された膜ベースのDNA増幅システムは、Northrupらによって明示されており([Northrup et al., "DNA Amplification with a Microfabricated Reaction Chamber", Proceedings of Transducers'93; the 7th International Conference on Solid State Sensors and Actuators, Yokohama, Japan, June 7-10, 1993, pp.924-926]を参照、これは出典明示して本明細書に含まれる)、かくして、該膜ベースのDNA増幅システムの特異的構造および操作は本明細書では詳しく議論しない。しかしながら、Northrupらのシステムは単に熱サイクリングを提供するだけで、何ら解析も生物学的電極の制御の能力も有さないことは特筆すべきであろう。かくして、当業者ならば、本発明による生物学的アレイは非常に都合良く、それ自体アレイはin situ DNA増幅および単一のデバイスを用いた引き続いての解析を可能にすることが分かるであろう。

さて、図7を参照すると、いくつかのアプリケーションに関して、光学的な蛍光または透過率検出回路を電極マトリックス12に直接組込んで、発光したまたは透過した光子をいずれかの装備された検出エレクトロニクスにカップリングさせるのを改善するのが望ましいであろう。蛍光検出の場合、DNAまたはDNAストランド間のインターカレーターのごとき、蛍光ラベルした生体分子の蛍光を励起することが知られている波長の光で、アレイ全体が照射される。この光は各サイトに位置する光学検出手段によって検出されるであろう。透過率検出の場合、関心の生体分子の存在により減衰すること（すなわち、それらの波長の光が該生体分子に吸収されること）が知られている波長の光で、アレイ全体が照射される。特定の電極サイトにおける関心の生体分子の存在は、そのサイトの位置する光学的ディテクターによって検知される光の減衰によって検出されるであろう。このアプローチは、生物学的アレイ10から遠く離れた造影カメラの使用よりもシグナルノイズ比(SNR)を非常に改善し得る。本質的に、これは、MOS-フォトダイオードのごとき適当な光学的ディテクター50または電荷結合デバイス(CCD)構造の上に（能動多重化回路と共にまたはそれは無くして）生物学的能動電極を結合することに関わる。そのような具体例において、インジウム・スズ酸化物(ITO)から形成されたもののごとき透明電極を使用することが望まれ

るであろうし、あるいは、図8(a)および8(b)に示したもののときスリットを入れたまたは穴を開けた電極構造を使用することが望まれるであろう。電極52の表面を通して(図8(a)に示すとき)オリフィス54または(図8

(b)に示すとき)トラフ56を設けることによって、電極52を通して光を光学的ディテクター50まで通過させることを可能にできる。当業者であれば、外部カメラの必要を排除し、かつ生物学的に制御されたハイブリダイゼーション(または他の分子相互作用)を行う能力を保持することによって、完成解析システムの全体の費用を大きく減少し得ることを理解するであろう。

本願の発明はいくつかの代替のまたは同等の形態を取ることができるが、それらの特定の実施例は図に示され、本明細書に詳細に説明される。しかしながら、本発明は開示された特別の形態または方法に限定されるべきではなく、しかし、その反対に、本発明は添付した特許請求の精神および範囲内に当たる全ての修飾物、同等物および代替物を包括することを理解するべきである。

【図1】

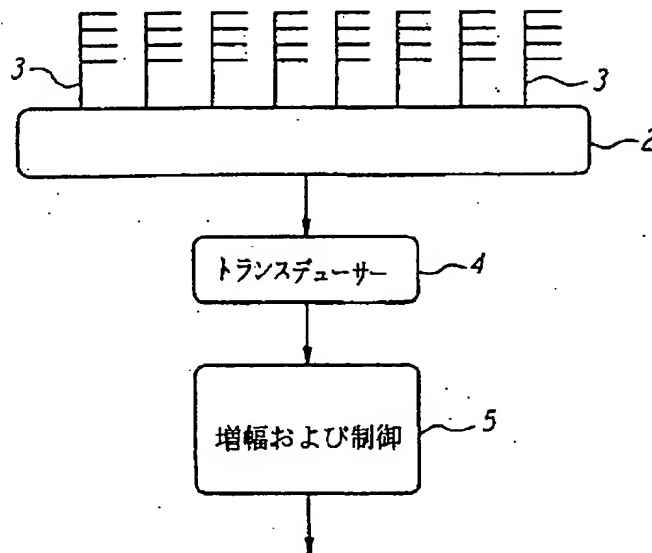


FIG. 1
(先行技術)

【図2】

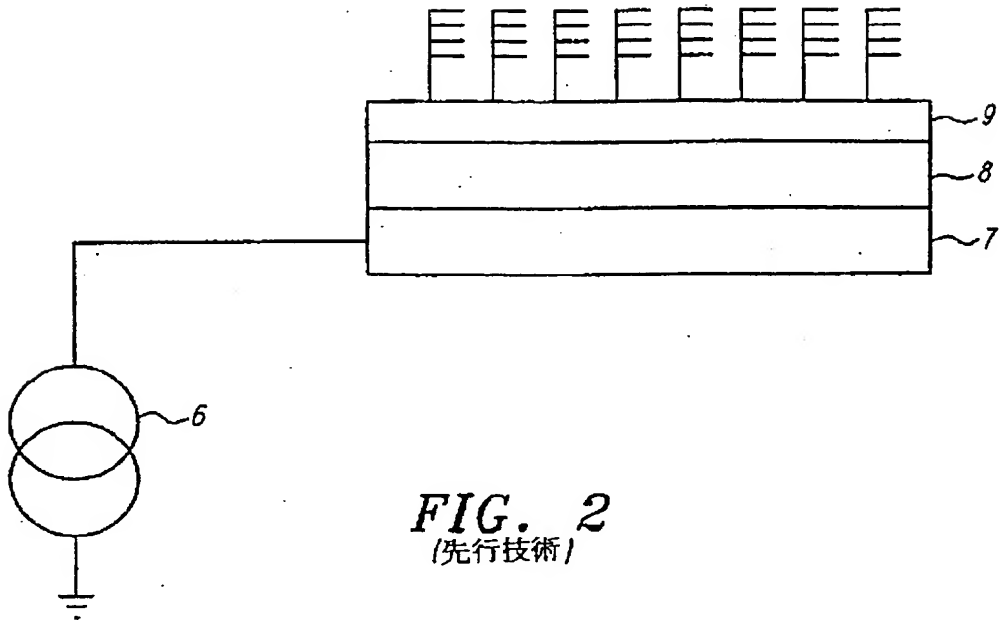


FIG. 2
(先行技術)

【図3】

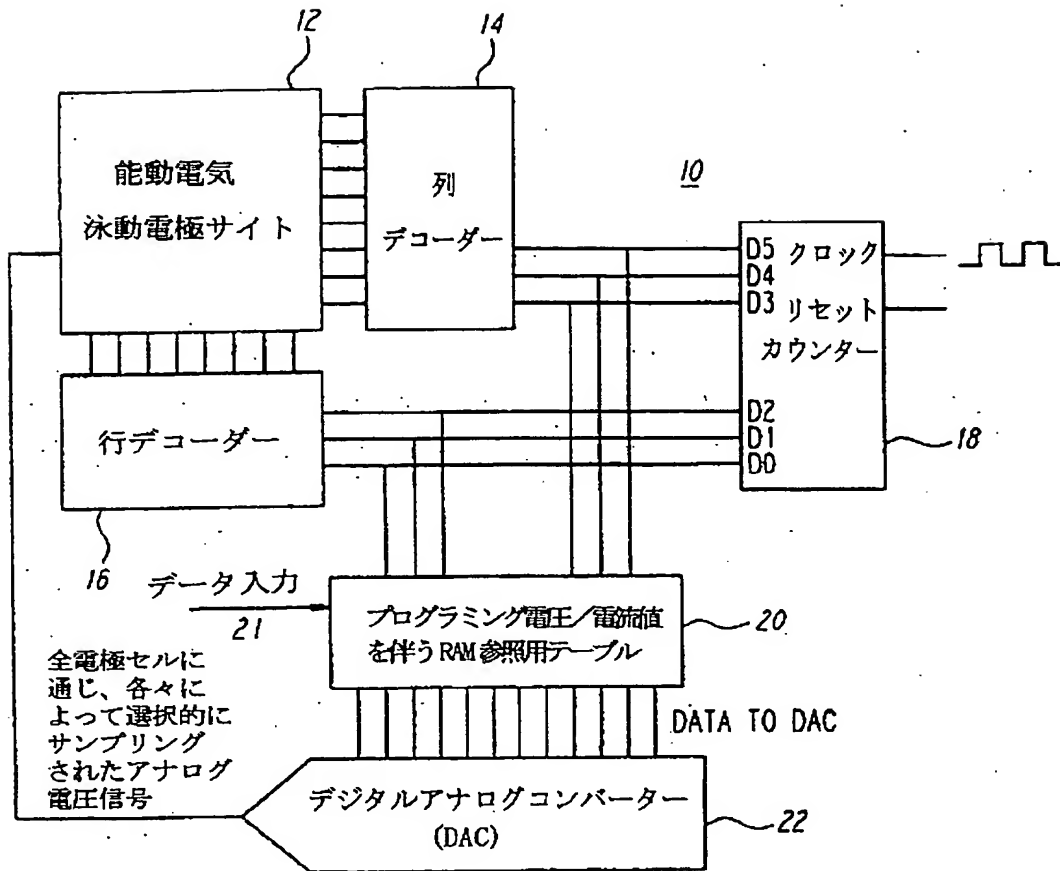


FIG. 3

【図4(a)】

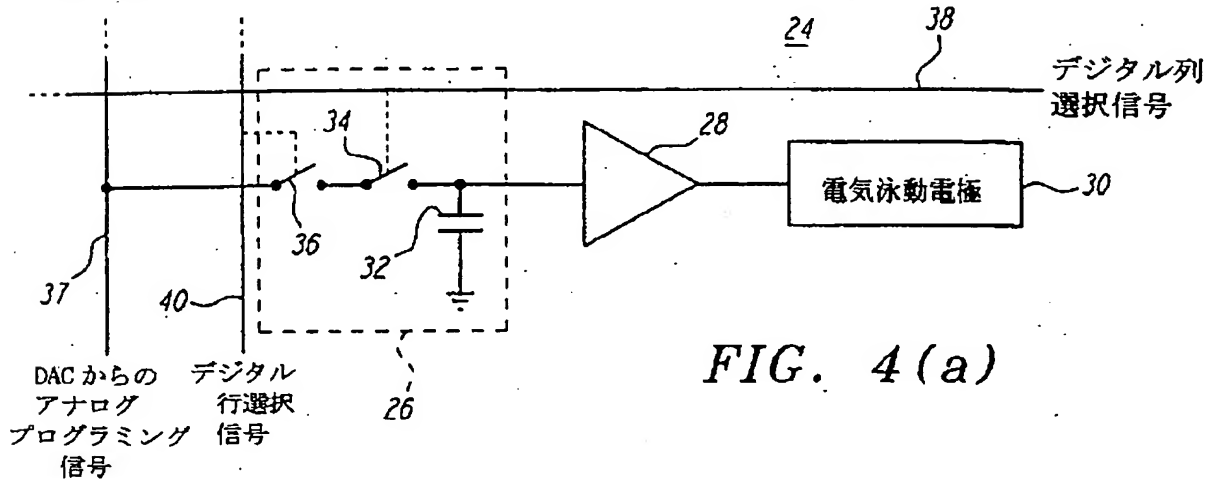


FIG. 4(a)

【図5】

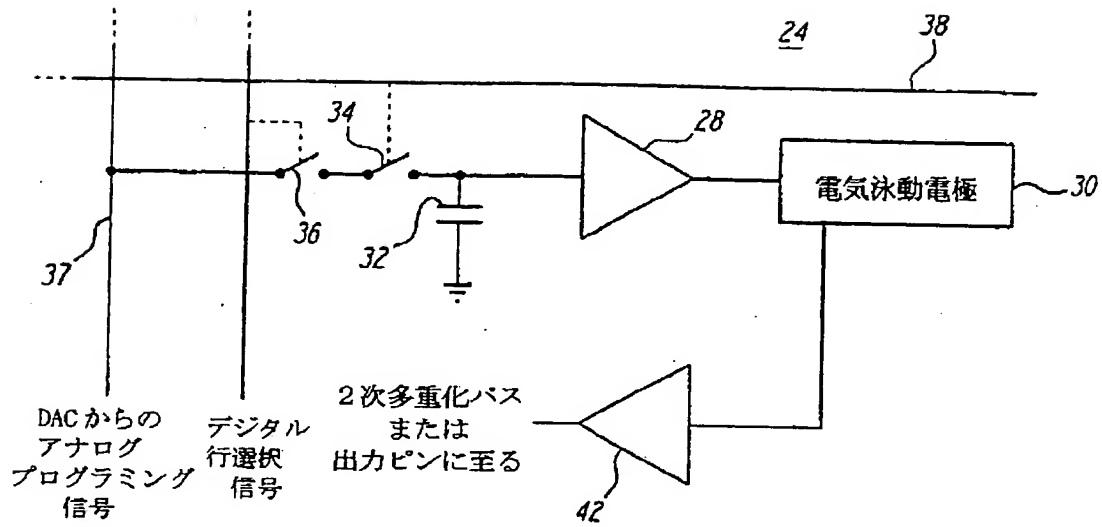


FIG. 5

【図4】

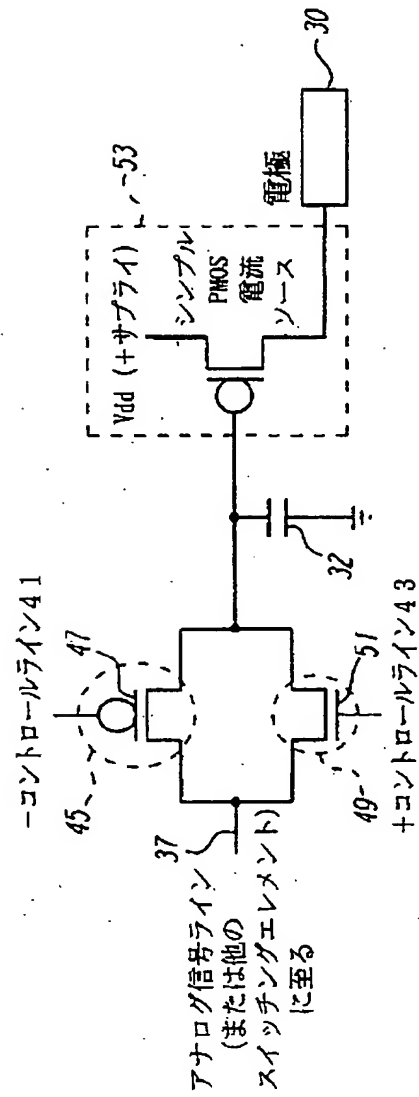


FIG. 4(b)

【図 4】

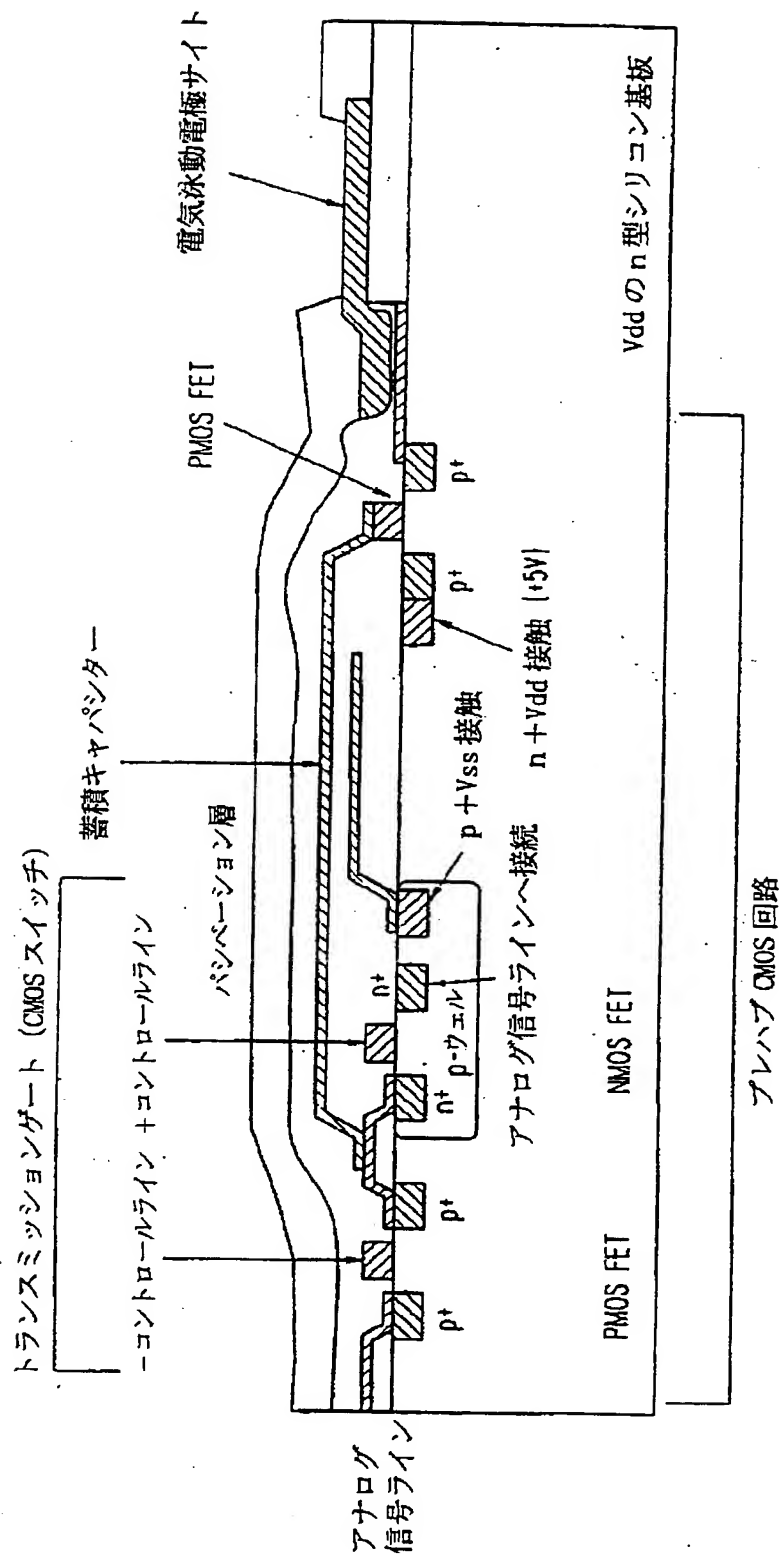
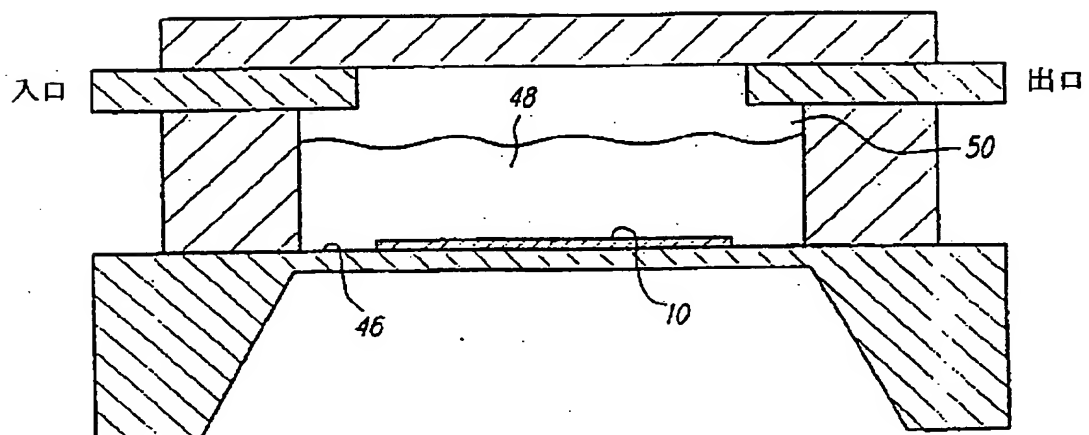
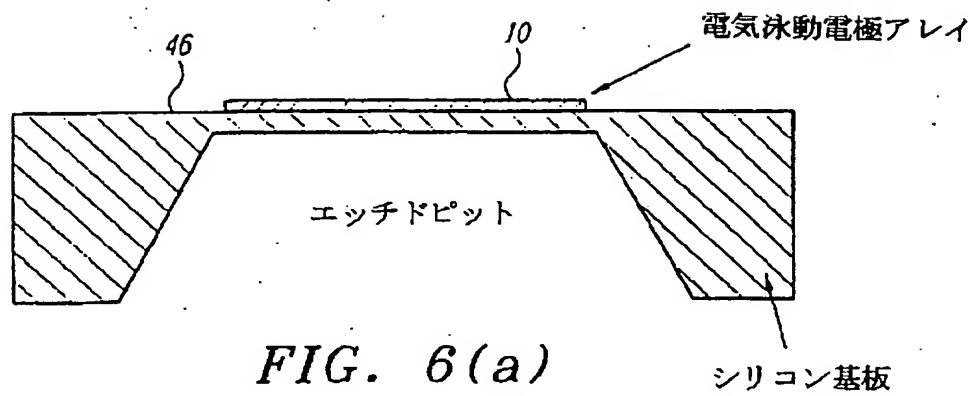


FIG. 4(c)

【図6】



【図7】

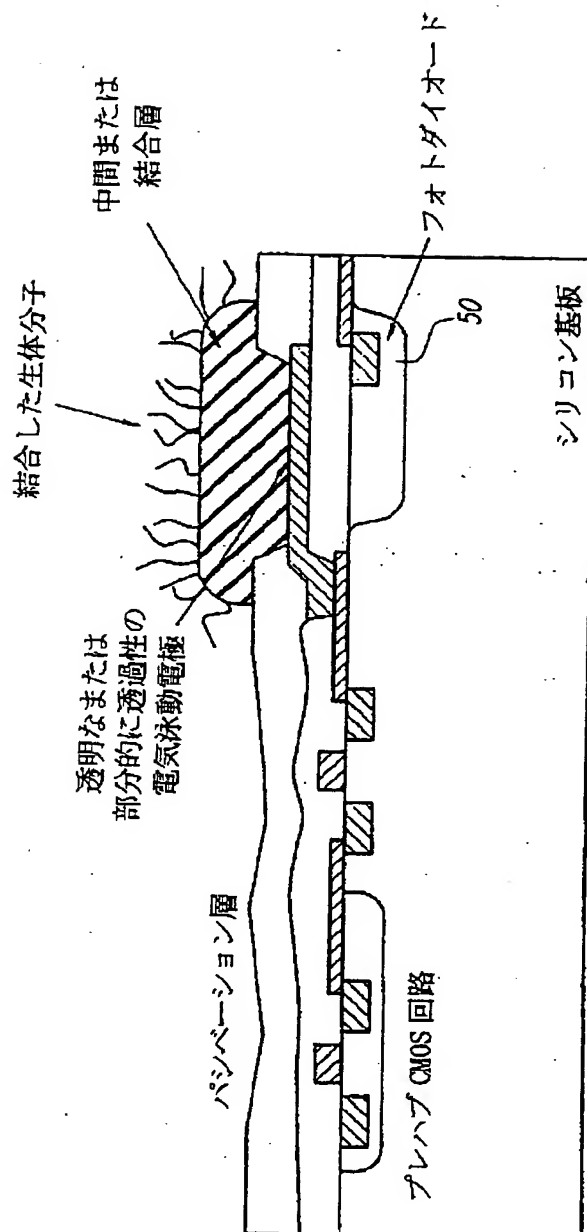
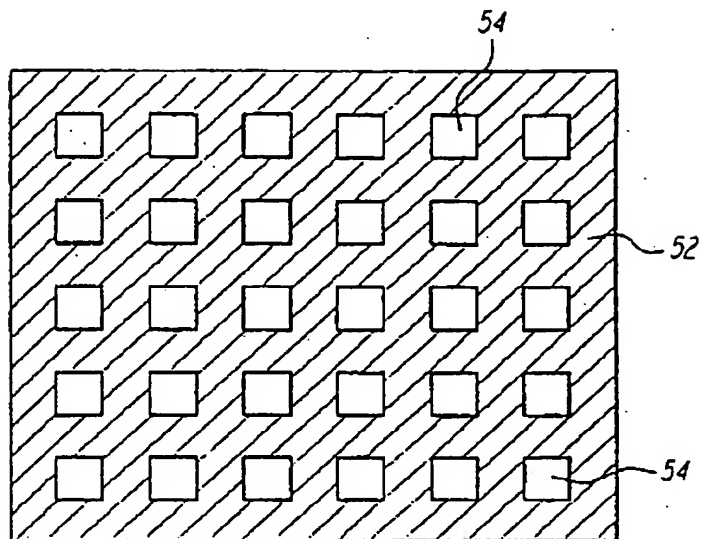
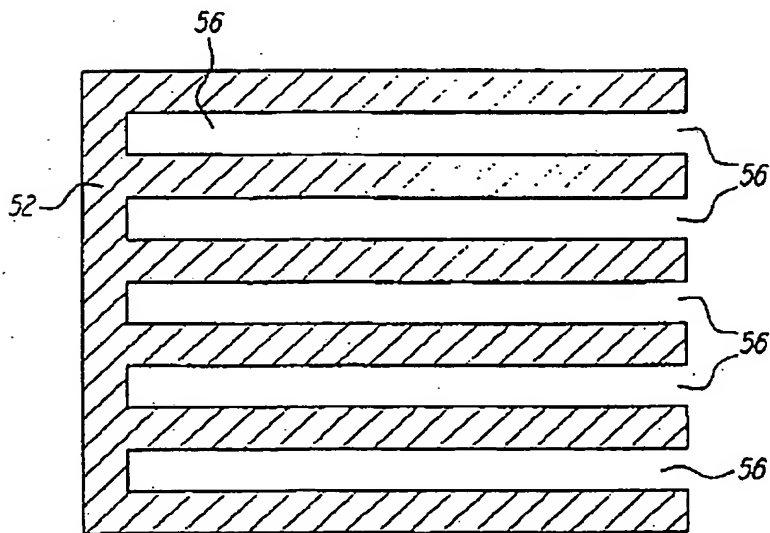


FIG. 7

【図8】



フォトディテクターへの
直接オプティカルパス

FIG. 8(a)

フォトディテクターへの
直接オプティカルパス

FIG. 8(b)

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US97/10997

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(6) : G01N 33/543, 27/07, 21/75; C12Q 1/68

US CL : Please See Extra Sheet.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

U.S. : Please See Extra Sheet.

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
Please See Extra Sheet.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 93/22678 A (MASSACHUSETTS INSTITUTE OF TECHNOLOGY) 11 November 1993, see entire document.	1-32
Y	G. C. Fiaccabrino et al, "Array of Individually Addressable Microelectrodes" Sensors and Actuators B, 1994, Vol. 18-19, pages 675-677, see entire document.	1-32
Y	Y. Gu et al, "Microcomputer-Based Fast Fourier Transform Electrochemical Impedance Measurement System" Wuhan Daxue Xuebao, Ziran Kexueban, 1987, pages 65-71, see abstract and figures.	1-32

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	*T	later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	*X	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
R earlier document published on or after the international filing date	*Y	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	*Z	document member of the same patent family
U document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		
I document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		

Date of the actual completion of the international search

25 SEPTEMBER 1997

Date of mailing of the international search report

09 OCT 1997

Name and mailing address of the ISA/US
Commissioner of Patents and Trademarks
Box PCT
Washington, D.C. 20231

Facsimile No. (703) 305-3230

Authorized officer

ARLEN SODERQUIST

Telephone No. (703) 308-0651

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US97/10997

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	R. J. Reay et al, "Microfabricated Electrochemical Analysis System for Heavy Metal Detection" Sensores and Actuators B, 1996, Vol. 34, pages 450-455, see entire document.	1-32
A	US 3,957,592 A (YOUNG) 18 May 1976.	1-32
A	US 5,178,161 A (KOVACS) 12 January 1993.	1-32
A	EP 376,611 A (THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY) 04 July 1990.	1-32
A	US 5,378,343 A (KOUNAVES et al) 03 January 1995.	1-32
A	WO 95/12808 A (NANOGEN, INC) 11 May 1995.	1-32

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US97/10997

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER:

US CL :

204/412, 413, 435, 290 R; 422/68.1, 82.01, 82.02, 82.03, 82.05; 436/73, 79, 86, 87, 88, 89, 90, 93, 94, 95, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 149, 150, 151, 164, 172, 501, 503, 508, 512, 513, 518, 527

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched

Classification System: U.S.

204/412, 413, 435, 290 R; 422/68.1, 82.01, 82.02, 82.03, 82.05; 436/73, 79, 86, 87, 88, 89, 90, 93, 94, 95, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 149, 150, 151, 164, 172, 501, 503, 508, 512, 513, 518, 527

B. FIELDS SEARCHED

Electronic data bases consulted (Name of data base and where practicable terms used):

STN search in CA, BIOSIS, AND MEDLINE files; search terms: electrode, sample, hold, bio?, electrolyt?, polarog?, electrochem?, voltamm?, renew?, microelectrode, ultramicroelectrode, assembly, array, microarray, multiplex, decoder, acd, analog, digital?, conver?